

(19) BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT

(12) Offenlegungsschrift
(10) DE 197 39 119 A 1

(51) Int. Cl. 6:
B 01 L 3/00

G 01 N 1/28
G 01 N 21/62
G 01 N 21/76
G 01 N 33/52
// G01N 21/64,21/76,
33/49

Oberlin
1-2
electron
reg

(71) Anmelder:
Friedrich-Schiller-Universität Jena, 07743 Jena, DE

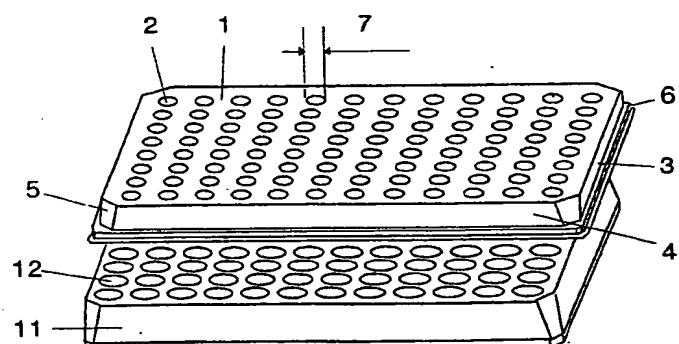
(72) Erfinder:
Rhode, Heidrun, Dr.med.habil., 07778 Hainichen,
DE; Horn, Anton, Prof. Dr.med.habil., 07749 Jena,
DE; Scharff, Max, 99887 Catterfeld, DE; Wölfel,
Helmut, 07751 Sulza, DE

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

(54) Mikrotiterplatte

(57) Die Erfindung betrifft eine Mikrotiterplatte, insbesondere zur Behandlung von Proben mit organischen Lösungsmitteln und zur Analyse mittels lichterzeugender Verfahren, mit in einem an sich bekannten Raster, beispielsweise n x 8 x m x 12, angeordneten Probengefäßen. Aufgabe ist es, eine aufwändiger herstellbare und gut handhabbare Mikrotiterplatte zu schaffen, die für eine Vielzahl unterschiedlichster Screening-Untersuchungen, einschließlich Fluoreszenz- und Lumineszenzmessungen, unter den jeweils spezifischen Anwendungsbedingungen, wie Lösungsmitteleinsatz etc., universell anwendbar ist. Die Mikrotiterplatte soll trotz kleiner Volumina (< 100 µl) der Analysengefäße problemlos, z. B. mit Filterpapierstanzlingen, beschickbar sein.

Erfindungsgemäß besteht die Mikrotiterplatte (1) aus lichtundurchlässiger, nichtfluoreszierender und gegen organische Lösungsmittel resisterter formnachgiebiger Thermoplaste, wie thermisch verformbares Polypropylen, und besitzt, vorzugsweise durch thermische Abformung von einer Matrize herstellbare, kegelstumpfförmige Probengefäße (2) zur Aufnahme von festen und flüssigen Proben im Mikroliter-Voluminabreich. Vorteilhaft ist eine Stabilisierungsplatte (11) zur Aufnahme und ggf. Temperierung der Mikrotiterplatte (1), wobei die Mikrotiterplatte (1) zweckmäßig mit Hilfe einer Auswurfplatte (13) wieder separiert werden kann.



Beschreibung

Die Erfindung betrifft eine Mikrotiterplatte, insbesondere zur Behandlung von Proben mit organischen Lösungsmitteln und deren Analyse mittels lichterzeugender Verfahren. Sie findet Verwendung in der biochemischen und immunologischen Forschung, in der medizinischen Diagnostik, in der chemischen und pharmazeutischen Industrie sowie in der Biotechnologie.

Mikrotiterplatten, die eine Pluralität von Probengefäßen in einem dem Koordinatenraster von Multipipetten entsprechenden Raster, beispielsweise 8x12 oder nx8xm×12, aufweisen, gewinnen in der Analytik zunehmend an Bedeutung. Ihr Vorteil liegt darin, daß eine Vielzahl von gleichen oder unterschiedlichen Proben, einschließlich Referenzlösungen, parallel behandelt und ausgewertet werden können. In letzter Zeit kommen mehr und mehr fluorimetrische und luminometrische Untersuchungen in Verbindung mit der Mikrotiterplattentechnologie, insbesondere wegen ihrer hohen Empfindlichkeit, zum Einsatz.

Derartige Mikrotiterplatten sind für viele Anwendungen an sich bekannt [z. B. A. Yamaguchi et al., Clin. Chem. 35 (1989) 1962-1964, T. Tuominen et al., Clin. Chim. Acta 212 (1992) 155-158] und bestehen insbesondere aus Polystyrol.

Bei Screeninguntersuchungen unter Verwendung stark gefärbter Proben, insbesondere von Blutproben, kommt es zu einer erheblichen Einengung der Anwendbarkeit optischer Analyseverfahren, da die analysierte Lichtintensität durch die Probe stark verfälscht wird und es daher zu einer bedeutenden Senkung der Empfindlichkeit kommt. Sehr häufig lassen sich die störenden Substanzen, wie beispielsweise Hämoglobin, elegant mit organischen Lösungsmitteln fällen, d. h. enteiweißen, und die besagten Störungen dadurch beheben oder zumindest stark vermindern. Neben dieser Art der Screeninguntersuchung werden gegenwärtig in zunehmenden Maße Verfahren entwickelt, die durch Naturstoffscreening und kombinatorische Chemie die effiziente Entwicklung neuer oder die Verbesserung bekannter Pharmaka erlauben. Sehr häufig müssen die zu screenenden Proben mit organischen Lösungsmitteln behandelt und danach analysiert werden.

Die gegenwärtig verfügbaren Mikrotiterplatten erfüllen die Anforderungen, die durch Hochdurchsatzscreening-Projekte gestellt werden (z. B. Nutzungsmöglichkeit für gefärbte Proben, ökonomisch vertretbaren Einsatz von teuren, hochstandardisierten Reagenzien und die praktikable Verwendbarkeit von Trockenproben auf Trägern, wie Filterpapier-Stanzlingen) nicht. Für den die Analysenkosten und die Reagenzienvolumina reduzierenden Mikroliterbereich sind keine lösungsmittelbeständigen mit optischen Mitteln analysierbaren Mikrotiterplatten verfügbar.

Einerseits bestehen die bisher bekannten, zur miniaturisierten Analyse mit optischen Mitteln geeigneten Mikrotiterplatten mit kleinen Höhlungen, alle aus Polystyrol und schließen wegen der Unverträglichkeit gegenüber Lösungsmitteln eine Analyse nach Lösungsmittel-Extraktion praktisch aus, wobei darüber hinaus übliche Filterpapierstanzlinge von auf Filterpapier aufgetrockneten Blutproben nicht problemlos und praktikabel in die bekannten Aufnahmegerüste der Mikrotiterplatte eingebracht werden können.

Andererseits sind lösungsmittelbeständige herkömmliche Mikrotiterplatten (z. B. Fa. Greiner) relativ teuer, aufgrund ihrer Transparenzeigenschaften nicht für alle optischen Analyseverfahren geeignet und erfordern außerdem große Probenvolumina und damit Reagenzien-Mengen. Dicse Mikrotiterplatten sind auf Grund der zu erwartenden hohen Kosten für Screening-Untersuchungen ebenfalls nicht geeignet.

Der Erfindung liegt deshalb die Aufgabe zu Grunde, eine mit geringem Aufwand herstellbare und gut handhabbare Mikrotiterplatte zu schaffen, welche die vorgenannten Nachteile in der Gesamtheit nicht aufweist und damit für eine Vielzahl unterschiedlichster Screening-Untersuchungen, insbesondere mit Einsatz von Fluoreszenz- und Luminenzmessungen, universell anwendbar ist. Die Mikrotiterplatte soll trotz kleiner Volumina der Analysengefäße problemlos, z. B. mit Filterpapierstanzlingen, beschickbar sein.

Erfindungsgemäß wird eine Mikrotiterplatte vorgeschlagen, die aus lichtundurchlässiger, nichtfluoreszierender und gegen organische Lösungsmittel resisternter formnachgiebiger Thermoplaste, wie thermisch verformbares Polypropylen, besteht und bei welcher die, vorzugsweise durch thermische Verformung hergestellten, Probengefäße, kegelstumpfförmig für Probenvolumina im Mikroliterbereich ausgebildet sind.

In den Unteransprüchen 2 bis 8 sind zweckmäßige Ausgestaltungsmerkmale der Erfindung, wie Mittel zur Erhöhung der mechanischen Stabilität, zur Erweiterung der Anwendungsmöglichkeiten und zur Verbesserung der Handhabung, beschrieben.

Die Mikrotiterplatte kann auf einfachste Weise und damit sehr wirtschaftlich, beispielsweise durch thermische Absformung von einer Matrize (Master) hergestellt werden und ist auf Grund ihrer Material- und Formeigenschaften der Probengefäße universell für zumindest eine Vielzahl von Anwendungen zur Probenbehandlung und Probenauswertung geeignet. Diese Anwendungen schließen auch optische Auswerteverfahren mit ein, ohne daß die Materialeigenschaften der Mikrotiterplatte die Empfindlichkeit der Auswertung beeinträchtigen. Durch die kegelstumpfförmige Form der Probengefäße wird eine gute und praktikable Beschickung der Probengefäße gewährleistet, wobei auch Partikel, wie Filterpapierstanzlinge etc., trotz der kleinen Gefäßvolumina ebenfalls mit inbegriffen sind. Die geringen Volumenabgrößen gestatten außerdem eine sehr kostengünstige Probenauswertung.

In der Gesamtheit vereinigt die Mikrotiterplatte dabei einzelne Vorteile speziell für bestimmte Anwendungsfälle bereits bekanntgewordener Mikrotiterplatten für eine breite und universelle Anwendbarkeit unter verschiedensten Nutzungsvoraussetzungen.

Die Erfindung soll nachstehend anhand der Zeichnung näher erläutert werden. Es zeigen:

Fig. 1 Perspektivdarstellung der Mikrotiterplatte mit Stabilisierungsplatte

Fig. 2 Mikrotiterplatte in Draufsicht

Fig. 3 Prinzipielle Anordnung der Mikrotiterplatte mit Stabilisierungsplatte in seitlichen Schnittdarstellungen

Fig. 4 Prinzipielle Anordnung der Mikrotiterplatte mit Stabilisierungsplatte und Auswurfsplatte in seitlichen Schnittdarstellungen

Fig. 5 Auf Filterpapier aufgetrocknete Überstände von bluthaltigen Proben nach Enteiweißung in der Mikrotiterplatte mit verschiedenen organischen Lösungsmitteln

Fig. 6 Präzision der Fluoreszenzmessung in der Mikrotiterplatte

Fig. 7 Unpräzision eines miniaturisierten Neugeborenen-Screening-Testes auf Galaktose-1-Phosphat-Uridyltransferase-Mangel

Fig. 8 Signalhöhe und Unpräzision eines miniaturisierten Neugeborenen-Screening-Testes auf Galaktose-1-Phosphat-Uridyltransferase-Mangel unter Verwendung verschiedener Enteiweißungsmittel.

In **Fig. 1** und **2** ist eine Mikrotiterplatte 1 in Perspektivansicht und Draufsicht dargestellt, die in einem an sich be-

kannten x-y-Rastermaß 8×12 insgesamt 96 Probengefäße 2 zur Aufnahme und Behandlung von Proben mit Volumina im Mikroliterbereich besitzt. Die Mikrotiterplatte 1 besteht aus Polypropylen I.M-885/30-T1480-160 und ist durch thermische Verformung (Ablösen von einer Matrize) aus einer folienartigen Platine hergestellt. In diesem Abformungsprozeß wurden gleichzeitig die 96 Vertiefungen für die Probengefäße 2 in die Platine eingeprägt sowie Formstabilisierungselemente von Seitenflächen 3 und 4, Eckenabschrägungen 5 und Abstufungen 6 erzeugt. Die eingeprägten Vertiefungen für die Probengefäße 2 sind kegelstumpfförmig, so daß ihr oberer Durchmesser 7 größer als ihr unterer Durchmesser 8 am Boden der Analysengefäße 2 ist und Seitenwände 9 konisch ausgebildet sind (vgl. Fig. 2). Mit der kegelstumpfförmigen Ausbildung der Probengefäße 2 im µ-Probenvoluminabereich wird gegenüber einer bekannten Mulden- oder Kegelform eine gute und praktikable Beschickung (u. a. auch mit Filterpapierstanzlingen) ermöglicht. Die kleinen Höhlungen der Probengefäße 2 machen diese Untersuchungen, welche dadurch lediglich geringe Probenmengen benötigen, in jeder Hinsicht sehr vorteilhaft und wirtschaftlich.

Das Material der Mikrotiterplatte 1 ist resistent gegen organische Lösungsmittel, wie insbesondere Aceton, Acetonitril, Methanol, Butanol, Hexan und Gemischen daraus, wodurch auch eine diesbezügliche Eignung für zahlreiche Anwendungsfälle (z. B. Enteiweißung in der biochemischen und klinisch-chemischen Analytik, Naturstoffscreening, kombinatorische Chemie etc.) gegeben ist.

Ferner ist dieses Material der Mikrotiterplatte 1 lichtundurchlässig sowie nichtfluoreszierend, so daß die Anwendung für optische Analyseverfahren gegeben ist, ohne daß das Gefäßmaterial die Probenauswertung einschränkt oder beeinflußt.

Auf der Oberfläche der Mikrotiterplatte 1 (siehe Fig. 2) ist eine Koordinatenkennung 10 für das Raster der Probengefäße 2 in Form von Buchstaben und Zahlen der entsprechenden Koordinate des 8×12 Probenrasters sichtbar. Diese kann beispielsweise aufgedruckt werden (Siebdruck o. ä.) bzw. gleich bei der thermischen Abformung der Mikrotiterplatte 1 mit eingeprägt werden.

Um die mechanische Forminstabilität der Mikrotiterplatte 1 (gerade für sehr dünnwandige und folienartig flexible Plattenausführungen) bei der Verwendung zu erhöhen, ist eine Stabilisierungsplatte 11 (Grundkörper) vorgesehen, auf welche die Mikrotiterplatte 1 aufgesetzt wird. Dazu besitzt die Stabilisierungsplatte 11 zwecks Aufnahme der Probengefäße 2 zu diesen korrespondierende Vertiefungen 12 (siehe Fig. 1). Fig. 3 zeigt die Prinzipanordnung der Mikrotiterplatte 1 mit Stabilisierungsplatte 11 in seitlichen Schnittdarstellungen (getrennter und aufgesetzter Zustand). Die Darstellung entspricht der in Fig. 2 angedeuteten Schnittebene A-B. Eine dünnwandige und damit formnachgiebige Ausführung der Probengefäße 2 (folienartige Seitenwände 9) unterstützt dabei eine form- und kraftschlüssige Passung der Probengefäße 2 in den Vertiefungen 12, was beispielsweise für einen engen Wärmekontakt bei einer Temperierung der Probengefäße 2 über die Stabilisierungsplatte 11 (in der Zeichnung nicht dargestellt) relevant ist.

Um ein praktikables Trennen der Mikrotiterplatte 1 von der Stabilisierungsplatte 11 zu ermöglichen, ist eine Auswurfplatte 13 vorgesehen, die zwei Auswurfstifte 14 besitzt. Die Stabilisierungsplatte 11 weist zwei mit diesen korrespondierende Löcher 15 auf, durch welche die Auswurfstifte 14 hindurchgreifen und die Mikrotiterplatte 1 zum Auswurf an ihrer Unterseite antasten. Die Schnittdarstellung von Fig. 4 entspricht dabei der in Fig. 2 angedeuteten Schnittebene C-D.

Um die universelle Verwendbarkeit der erfindungsgemäßen Mikrotiterplatte 1 für die unterschiedlichsten Probenauswertungen zu demonstrieren, sollen vier Anwendungsbeispiele mit den Zeichnungen 5–8 vorgestellt werden.

Anwendungsbeispiel 1

Fällung von Hämoglobin mit organischen Lösungsmitteln

- 10 Je ein 3 mm-Blutblättchen wird in jedes Probengeäß 2 der Mikrotiterplatte 1 placiert und mit je 20 µl 100 nM Triäthanolamin/HCl, pH 7,8 mit 0,133% (w/v) Digitonin, 0,9 mM EDTA, 0,63 mM Dithiothreitol und 0,02% NaN₃ (1 und 2 in Fig. 5) bzw. H₂O (3 und 4 in Fig. 5) zwei Stunden bei 37 °C eluiert. Danach werden die Mikrotiterplatte auf Raumtemperatur abgekühlt und in jeweils zwei Probengefäße identisch je 40 µl (1 und 3 in Fig. 5) bzw. 60 µl (2 und 4 in Fig. 5) der folgenden Lösungsmittel pipettiert: (A) Aceton, (B) Acaetonitril, (C) Methanol, (D) Äthanol, (E) Propanol, (F) Isopropanol, (G) Butanol, 1/1(v/v)-Mischungen aus (H) Äthanol/Aceton, (I) Metanol/Aceton, (J) Butanol/Aceton, (K) Methanol/Äthanol, (L) Methanol/Propanol, (M) Propanol/Aceton, (N) Methanol/Isopropanol, (O) Methanol/Butanol und (P) H₂O.
- 15 20 25 30 Blutblättcheneluat und Lösungsmittel werden auf einem Mikrotiterplattenschüttler gemischt und bei 4000 g für 5 min zentrifugiert. 5 µl des Überstandes werden auf MN818 pipettiert und die Anwesenheit von Hämoglobin auf dem Filterpapier visuell beurteilt. Fig. 5 zeigt, daß unter allen Bedingungen nur Aceton, Acetonitril, Propanol und Methanol und 1/1-Mischungen aus Methanol/Aceton eine komplette Enteiweißung erzeugen.

Anwendungsbeispiel 2

Fluoreszenzmessung in der Mikrotiterplatte

- 35 40 45 50 Die Fluoreszenz jeweils aller 96 Probengefäße 2 der Mikrotiterplatte 1 werden leer, oder mit 80, 90 bzw. 100 µl eines Puffers ohne oder mit NADH oder Methylumbelliferon gefüllt bei 460 nm (Anregung 355 nm) in einem an sich bekannten Fluorimeterreader gemessen. In Fig. 6 sind Signal-Höhen und Unpräzisionen dieser Messungen zusammengestellt.
- 55 60 65 70 75 80 85 90 95 100 Die erfindungsgemäße Mikrotiterplatte besitzt damit gegenüber herkömmlichen zur Fluorimetrie verwendeten Mikrotiterplatten aus weißem oder schwarzem Polystyrol vergleichbar gute Präzisionseigenschaften.

Anwendungsbeispiel 3

Miniaturisierter Neugeborenen-Screening-Test auf Galaktose-1-Phosphat-Uridyltransferase-Aktivität

- 55 Zu jeweils einem Blutblättchen (3 mm Ø) pro Probengeäß 2 der Mikrotiterplatte 1, welches Normalblut eines erwachsenen freiwilligen Spenders oder entsprechende Verdünnungen im Eigenplasma aufgetrocknet enthält, werden 20 µl des Testgemisches pipettiert. Das Testgemisch enthält 100 mM Triäthanolamin/HCl, pH 7,8, 0,133% (w/v) Digitonin, 0,9 mM EDTA, 0,63 mM Dithiothreitol, 0,02% NaN₃ (w/v), 6,48 mM Galaktose-1-phosphat, 4,4 mM UDP-glukose, 4,82 mM NADP. Individuelle Blindwerte werden mit dem gleichen Testgemisch, aber ohne Galaktose-1-phosphat parallel bestimmt.
- 60 65 70 75 80 85 90 95 100 Die Mikrotiterplatte wird kurz auf einem Mikrotiterplattenschüttler geschüttelt, mit einer Klebefolie abgedeckt und zwei Stunden bei 38°C inkubiert. Danach erfolgt die Entei-

weißung durch Zugabe von 60 µl Methanol/Aceton (1/1, v/v), Schütteln und Zentrifugation bei 4000 g für 5 min. Die Fluoreszenz der Lösung in den Probengefäßen 2 wird direkt in der Mikrotiterplatte 1, welche in die Stabilisierungsplatte 11 eingedrückt ist, bei 460 nm (355 nm Anregung) im Fluorimeter gemessen. Die erhaltenen Signale (Skalenteile) und Unpräzisionen des Testes sind in Fig. 7 zusammengestellt.

Die Signalhöhen übersteigen diejenigen, die bei herkömmlichen Tests mit größeren Volumina erreicht werden um das 5-10-fache. Die erreichten Präzisionen machen den Test für Screeningzwecke gut geeignet.

Anwendungsbeispiel 4

Test auf Galaktose-1-Phosphat-Uridyltransferase-Aktivität unter Verwendung verschiedener Enteiweißungsmittel 15

Der miniaturisierte Test wird wie in Anwendungsbeispiel 3 durchgeführt, jedoch verschiedene Lösungsmittel als Enteiweißungsreagenz mit einem Volumen von 40 bzw. 60 µl eingesetzt: Es werden jeweils 6 Proben in einer Serie gleichmäßen behandelt.

60 µl Testpuffer: Aceton/Methanol (1/1), Äthanol, Methanol, Aceton, Propanol, Acetonitril; 25
40 µl Äthanol.

Die erreichten Fluoreszenzen und Unpräzisionen sind in Fig. 8 zusammengestellt.

Es ist zu sehen, daß die Lösungsmittel Methanol und Aceton/Methanol (1/1), die komplett enteiweißen (vgl. Fig. 5), auch die höchsten Test-Fluoreszenzsignale bei guten Testpräzisionen ermöglichen. Propanol, Acetonitril und Aceton führen zu einer Verminderung der NADPH-Fluoreszenz. Testpuffer und Äthanol entfernen das störende Hämoglobin nicht bzw. nur unvollständig.

Bezugszeichenliste

- 1 Mikrotiterplatte
- 2 Probengefäß
- 3, 4 Seitenfläche
- 5 Eckenabschrägung
- 6 Abstufung
- 7, 8 Durchmesser
- 9 Seitenwand
- 10 Koordinatenkennung
- 11 Stabilisierungsplatte
- 12 Vertiefung
- 13 Auswurfsplatte
- 14 Auswurfstift
- 15 Loch

35

40

45

50

Patentansprüche

1. Mikrotiterplatte, insbesondere zur Behandlung von Proben mit organischen Lösungsmitteln und zur Analyse mittels lichterzeugender Verfahren, mit in einem an sich bekannten Raster, beispielsweise n×8×m×12, angeordneten Probengefäßen, dadurch gekennzeichnet, daß die Mikrotiterplatte (1) aus lichtundurchlässiger, nichtfluoreszierender und gegen organische Lösungsmittel resistenter formnachgiebiger Thermoplaste, wie thermisch verformbarem Polypropylen, besteht und daß die, vorzugsweise durch thermische Verformung hergestellten, Probengefäße (2), kegelstumpfförmig zur Aufnahme von festen und flüssigen Proben im Mikroliter-Voluminabreich ausgebildet sind.
2. Mikrotiterplatte nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Thermoplaste mit colorierten Pig-

menten versehen ist.

3. Mikrotiterplatte nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Mikrotiterplatte (1) Mittel (3, 4, 5, 6) zur Erhöhung der Formstabilität, wie beispielsweise Seitenflächen, Wülste, Stufen, Falze, Sicken, Abschrägungen u.ä. vorgesehen sind.

4. Mikrotiterplatte nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß auf der Oberfläche der Mikrotiterplatte (1) eine Koordinatenkennung (10) für das Raster der Probengefäße (2) angegeben ist.

5. Mikrotiterplatte nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß die Koordinatenkennung (10) ebenfalls durch thermische Verformung in die Oberfläche der Mikrotiterplatte (1) eingeprägt ist.

6. Mikrotiterplatte nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß eine Stabilisierungsplatte (11) vorgesehen ist, die zu den als Vertiefungen der Mikrotiterplatte (1) ausgebildeten Probengefäßen (2) korrespondierende Aufnahmevertiefungen (12) besitzt, in welche die Probengefäße (2) der Mikrotiterplatte (1) form- und kraftschlüssig eingesetzt werden.

7. Mikrotiterplatte nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß die Stabilisierungsplatte (11) Mittel zur Temperierung besitzt, z. B. eine interne elektrische Heizspirale, oder mit solchen in Verbindung steht, z. B. zu einem Flüssigkeitsbad.

8. Mikrotiterplatte nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß eine Auswurfsplatte (13) vorgesehen ist, die mindestens zwei Auswurfstifte (14) besitzt, welche zum Auswurf der Mikrotiterplatte (1) aus der Stabilisierungsplatte (11) durch korrespondierende Löcher (12) der Stabilisierungsplatte (11) hindurchgreifen und die Mikrotiterplatte (1) von der Unterseite antasten.

Hierzu 8 Seite(n) Zeichnungen

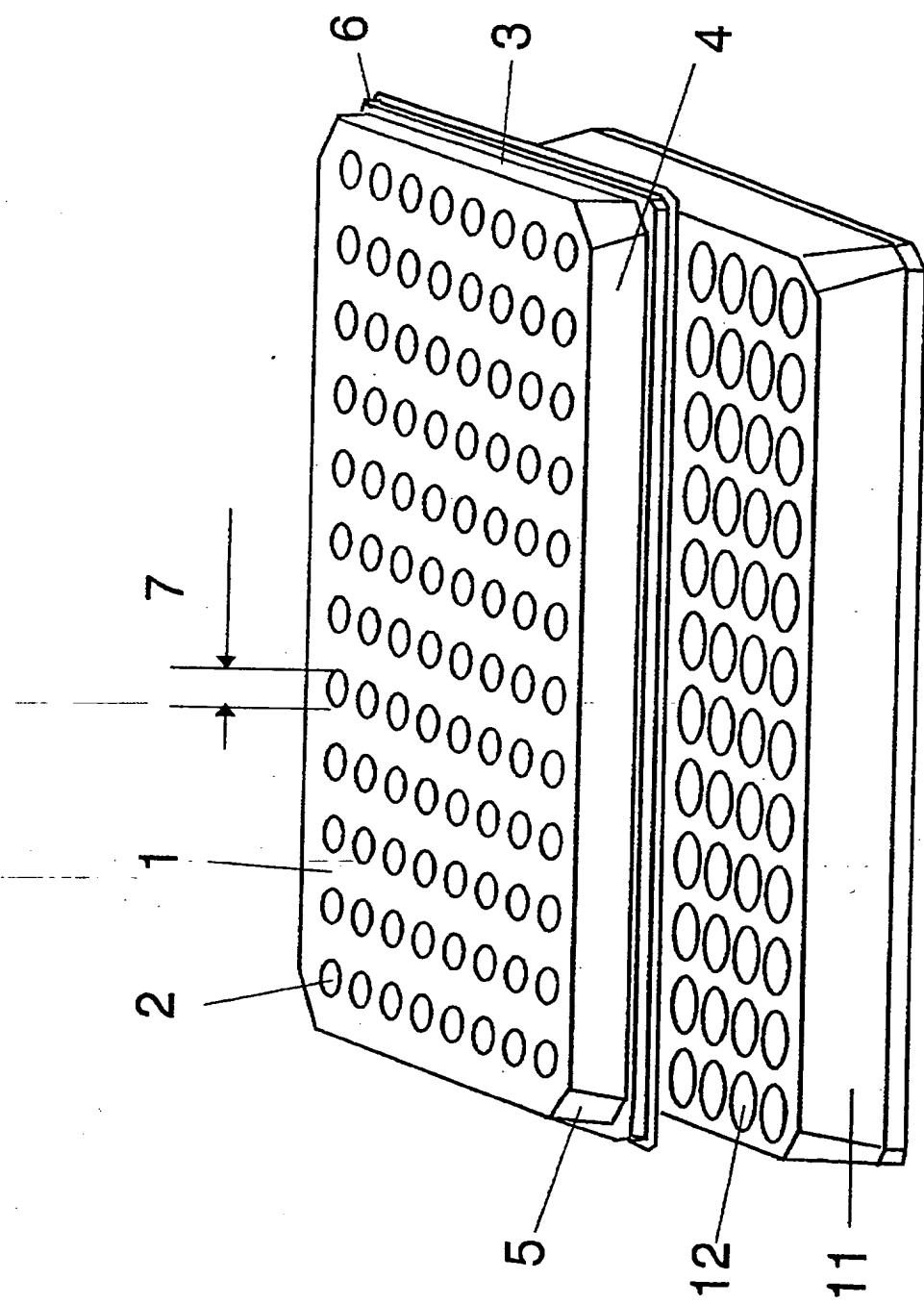


Fig. 1

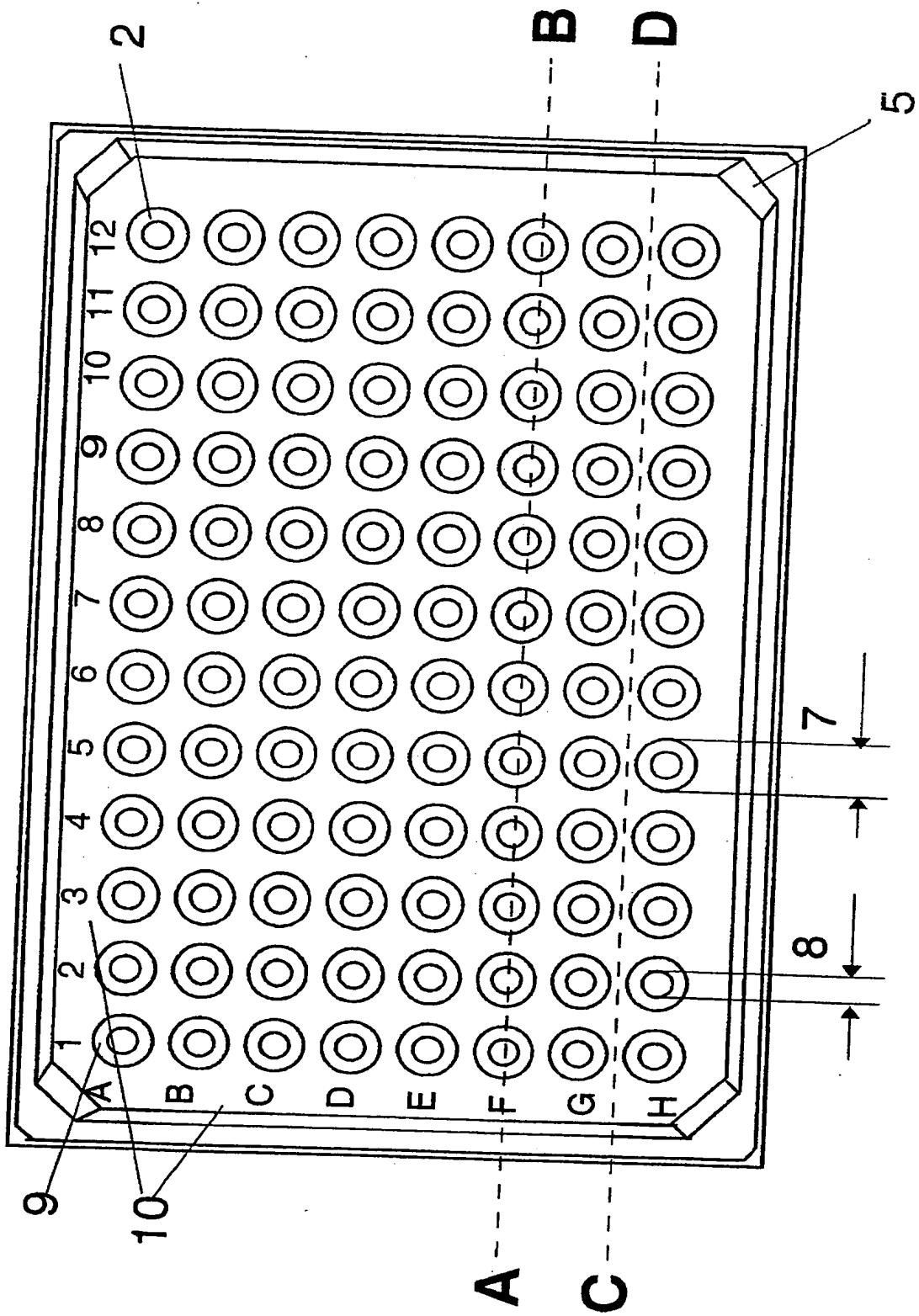


Fig. 2

Nummer:
Int. Cl.⁶:
Offenlegungstag:

DE 197 39 119 A1
B 01 L 3/00
11. März 1999

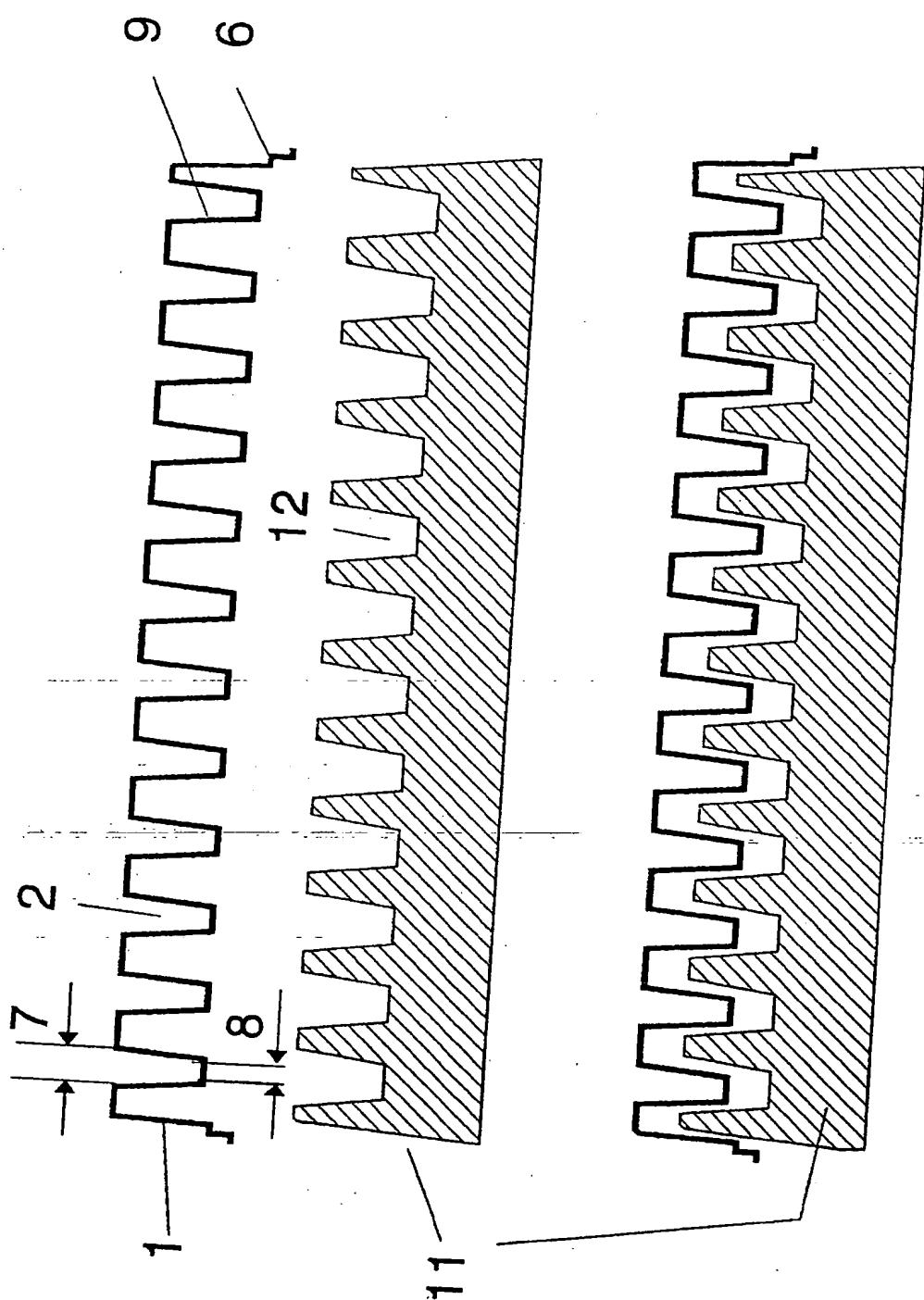


Fig. 3

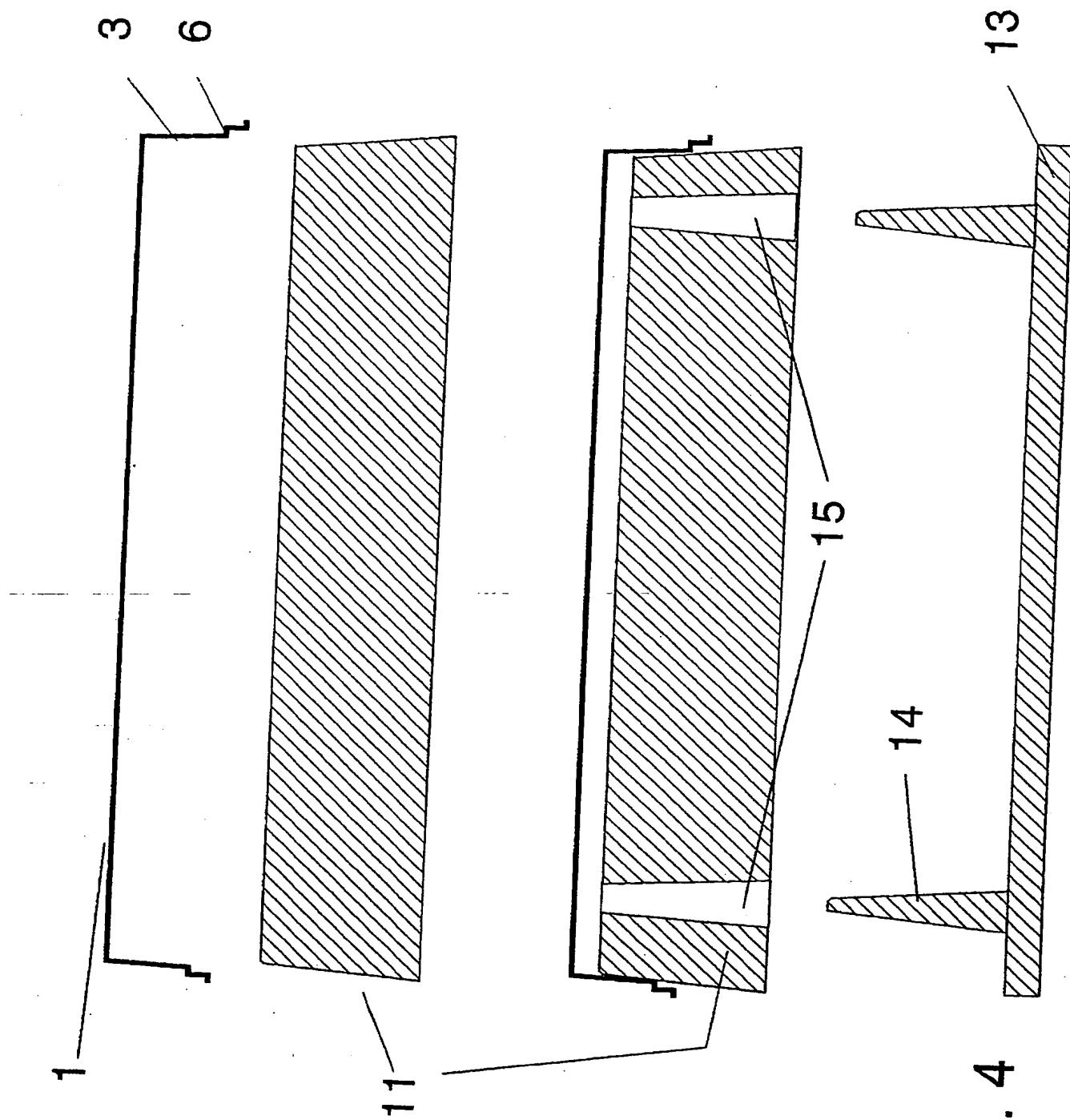
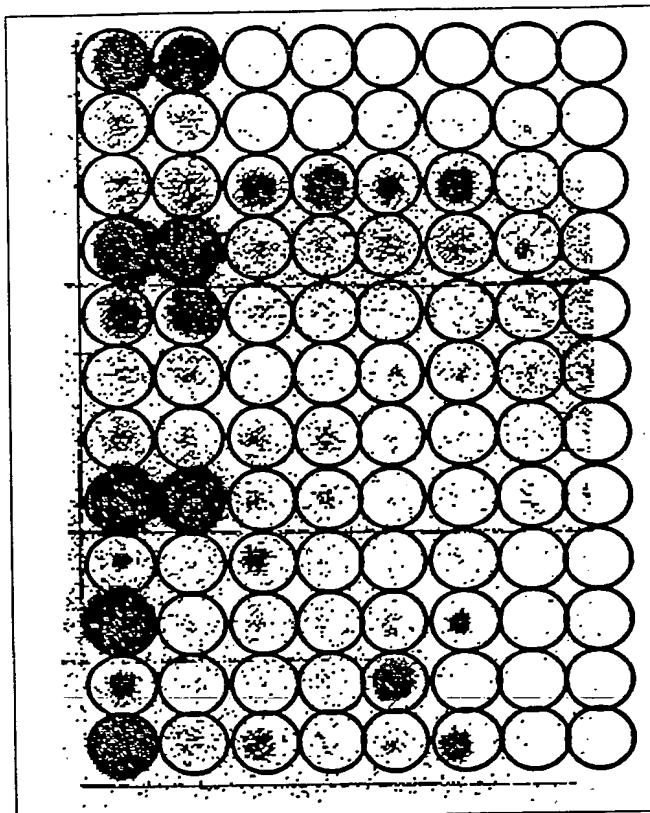


Fig. 4



	D D C C B B A A
1	H H G G F F E E
	L L K K J J I I
	P P O O N N M M
	D D C C B B A A
2	H H G G F F E E
	L L K K J J I I
	P P O O N N M M
3	H G F E C C B A
	P O N M L K J I
	H G F E D C B A
4	P O N M L K J I

Fig. 5

	Fluoreszenz (Mittel) ± Standardabweichung	VK (%)	Anzahl der Platten (z)
leer	2,22 ± 0,19		6
100 µl A	3,69 ± 0,31		3
0,4 mM NADH in A			
100 µl	523,73 ± 6,91	1,32	3
90 µl	525,79 ± 7,65	1,45	3
80 µl	525,5 ± 7,77	1,47	3
0,2 mM NADH in A, 100 µl	477,8 ± 8,46	1,77	1
0,1 mM NADH in A, 100 µl	360,1 ± 5,94	1,65	3
Methylumbelliferon in B, 100 µl			
2,5 µM	2637,3 ± 51,69	1,96	1
5,0 µM	5823,65 ± 120,55	2,07	2

A: 100 mM Triäthanolamin/HCl pH 7,8, B: 1 M Diethanolamin/HCl pH 9.8
 Fluoreszenzwerte sind die Mittel und Standardabweichungen von n
 ($n = z \times 96$), VK: Mittel der Variationskoeffizienten aller z Einzel-VK der
 gemessenen Platten;

Fig. 6

a: Intra-assay-Unpräzision:

GALT-Aktivität	Fluoreszens (Mittel)	VK (%)	n
0 (Galaktosämie)	8.84	12.56	12
verdünntes Normalblut	37.84	11.17	20
verdünntes Normalblut	116.58	7.55	21
verdünntes Normalblut	169.35	6.80	21
Normalblut	188.17	7.03	21
Blindwert vom Normalblut	8.15	8.36	21

b: Inter-assay-Unpräzision:

GALT-Aktivität	Fluoreszens (Mittel)	VK (%)	n
0 (Galaktosämie)	8,2	19,3	12
verdünntes Normalblut	37,63	17,2	12
verdünntes Normalblut	107,84	7,8	12
verdünntes Normalblut	150,78	8,1	12
Normalblut	186,32	4,3	12

Fig.7

Signal des GALT-Tests mit verschiedenen Enteiweißungsmitteln

20 µl Test, 60 (40) µl Enteiweißungslösung

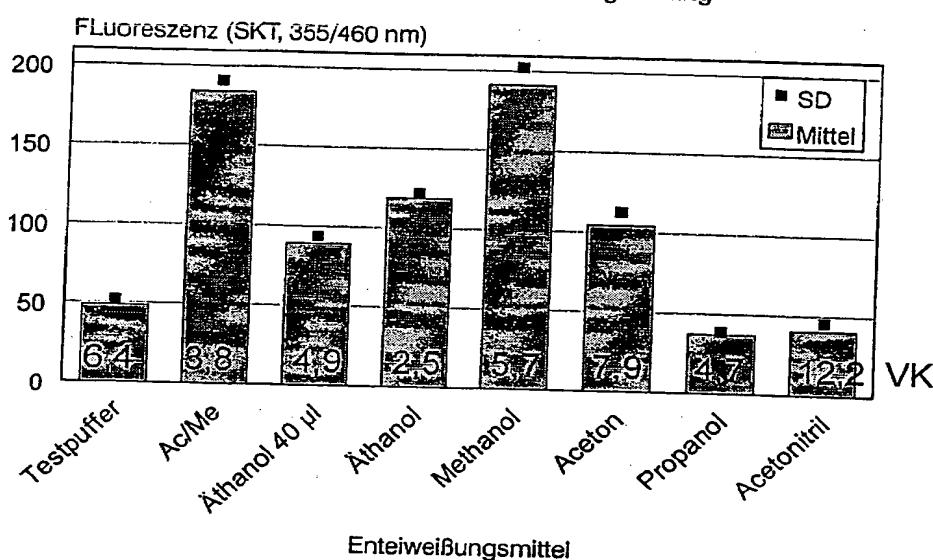


Fig. 8

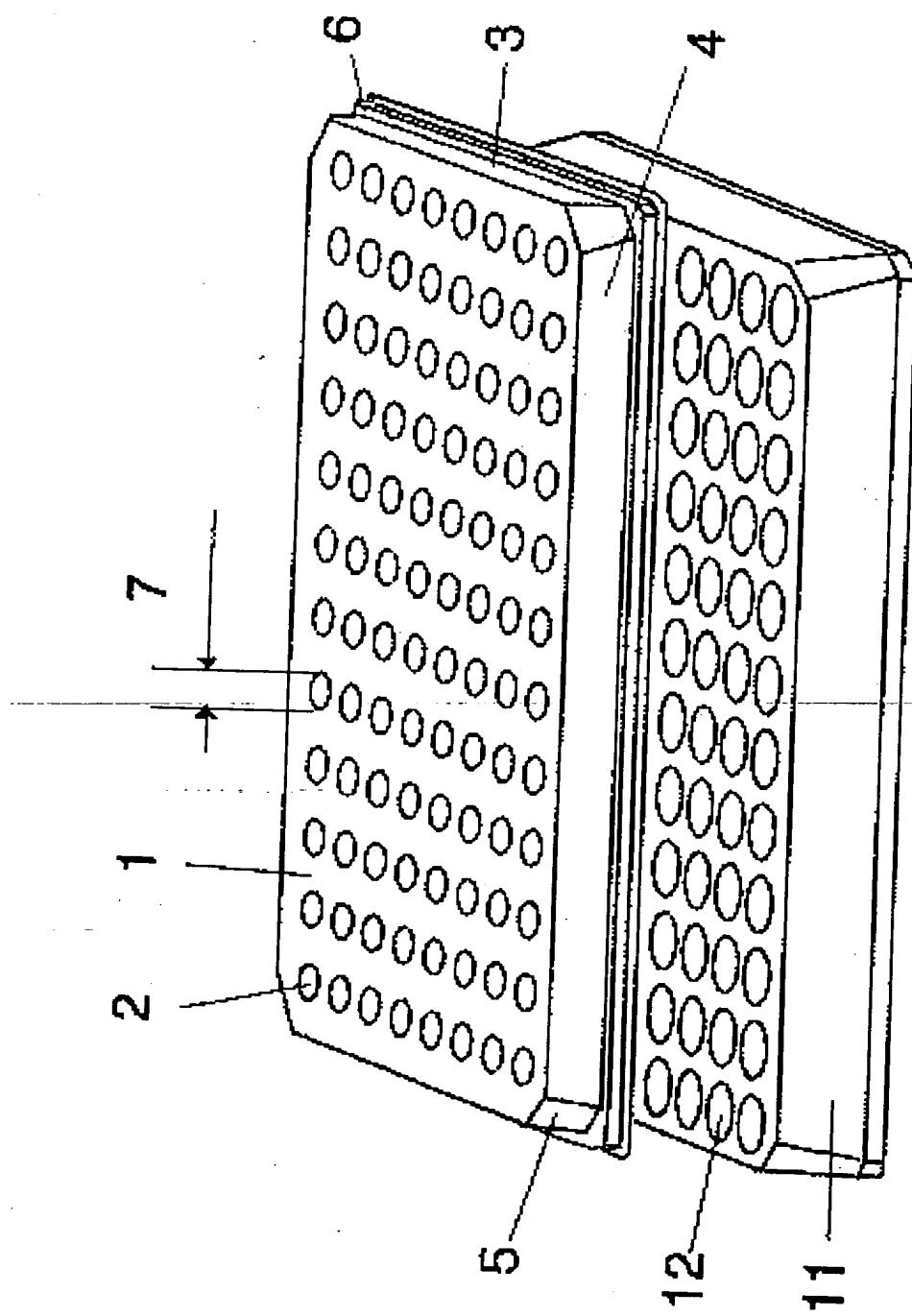


Fig. 1

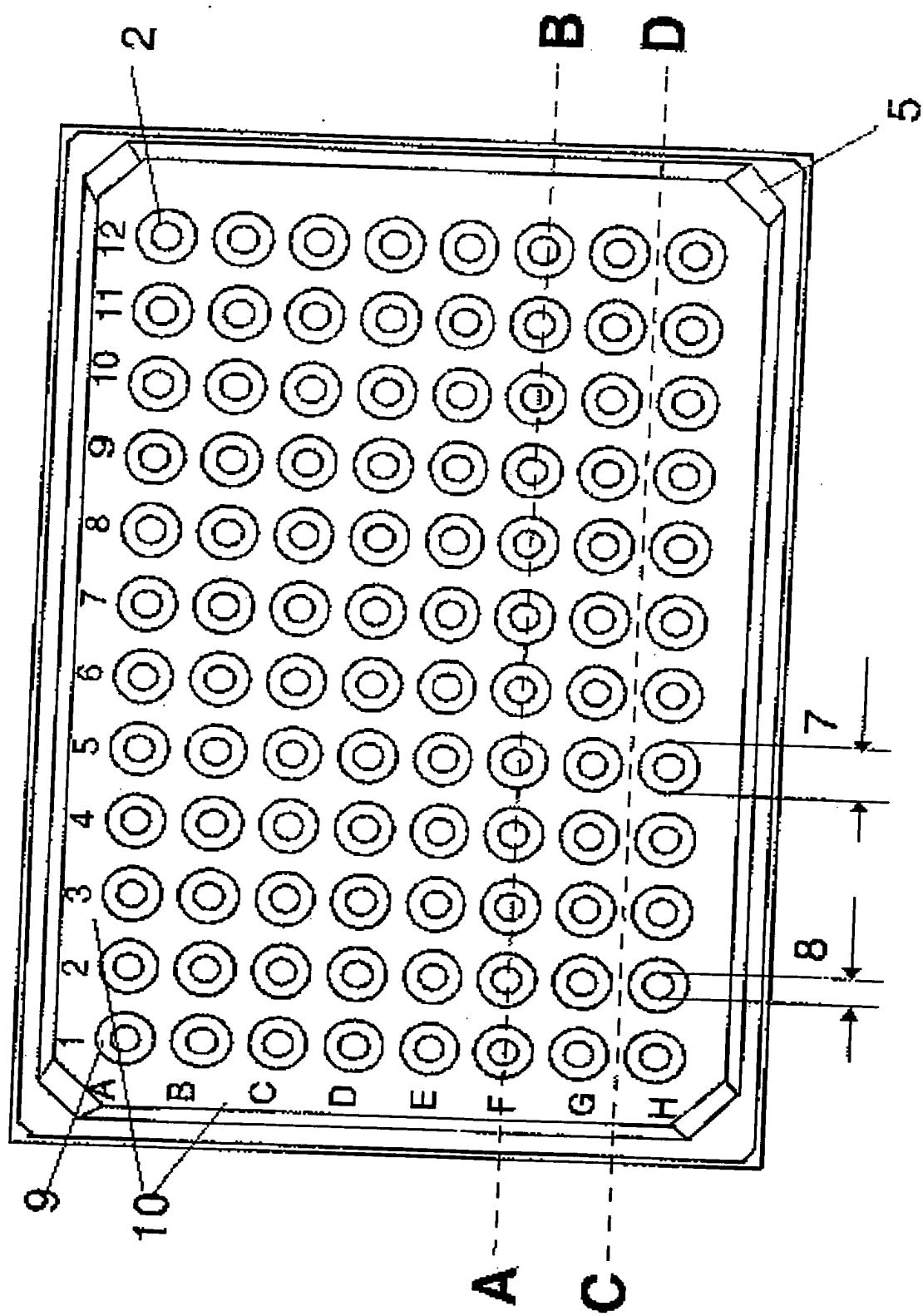


Fig. 2

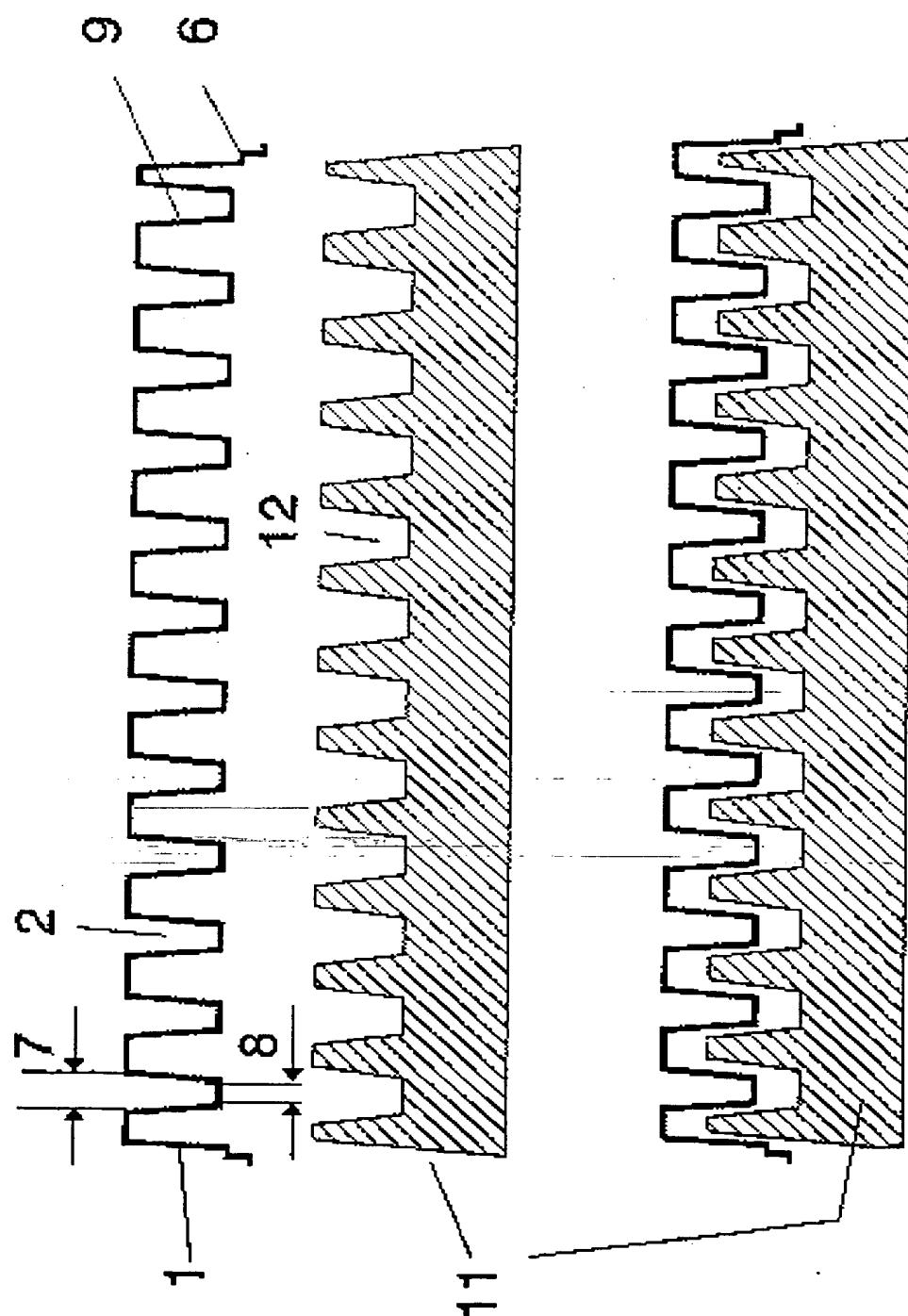


Fig. 3

Nummer:
Int. Cl. 5
Offenlegungstag:

DE 197 38 119 A1
B 01 L 3/00
11. März 1989

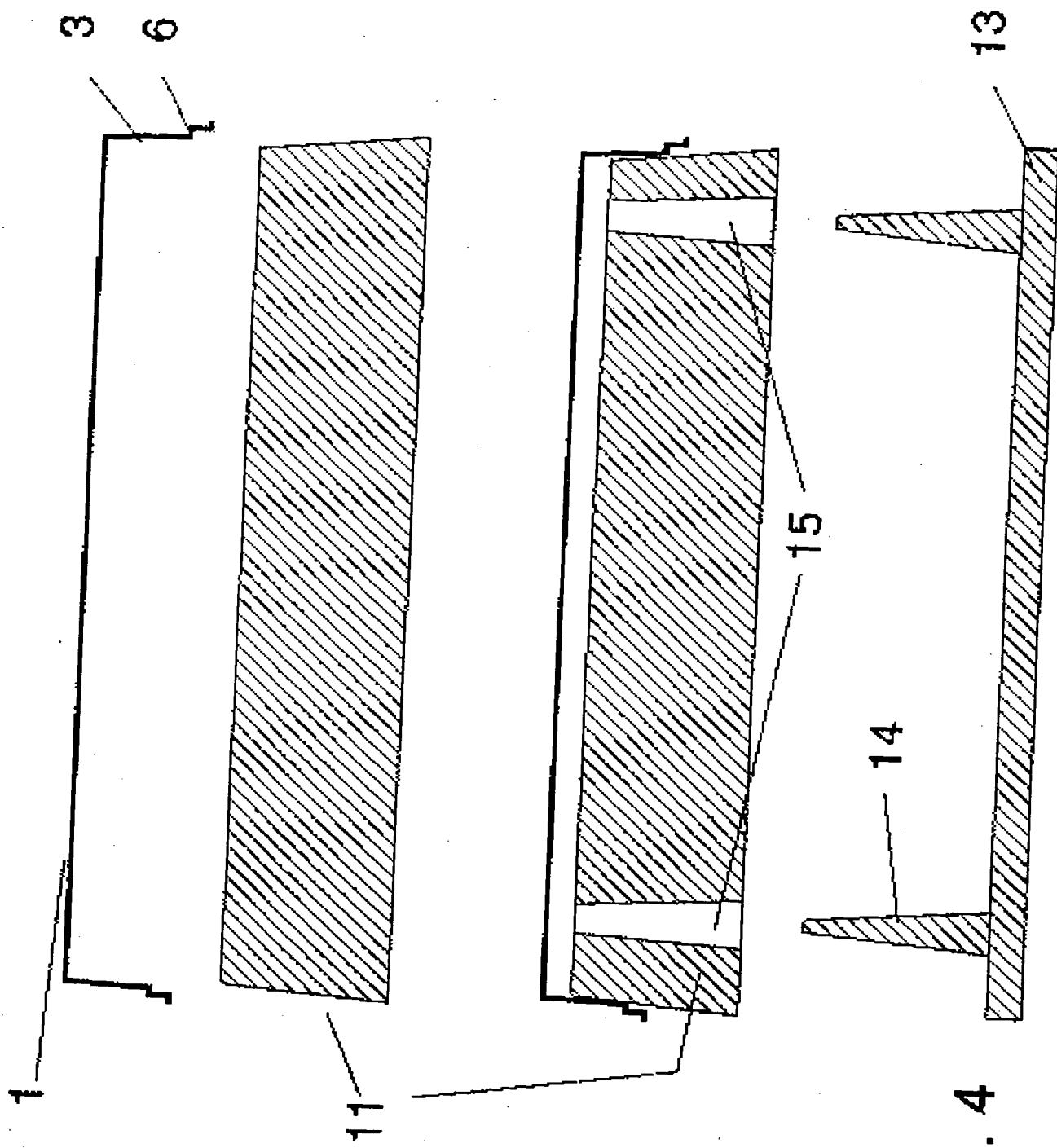
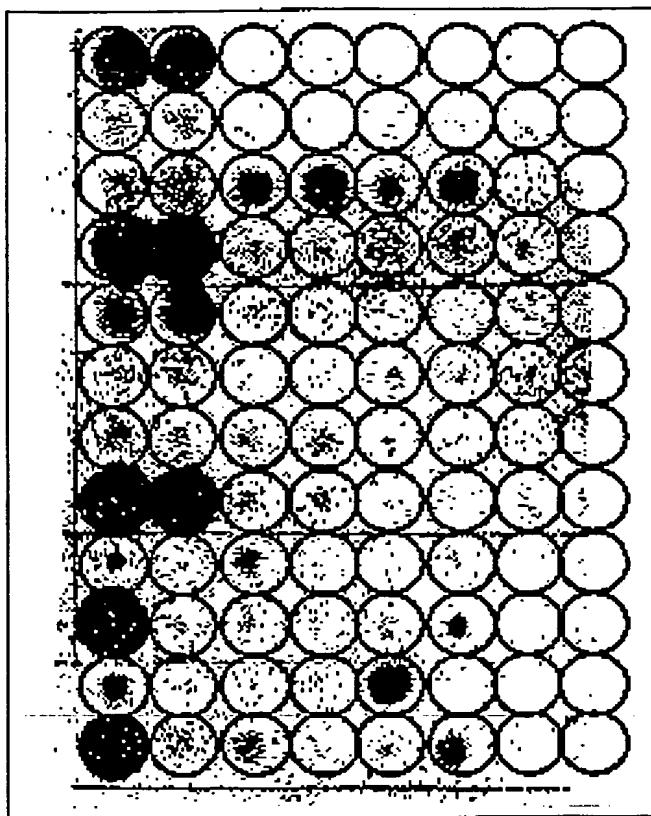


Fig. 4



	D	D	C	C	B	B	A	A	
1	H	H	G	G	F	F	E	E	
	L	L	K	K	J	J	I	I	
	P	P	O	O	N	N	M	M	
	D	D	C	C	B	B	A	A	
2	H	H	G	G	F	F	E	E	
	L	L	K	K	J	J	I	I	
	P	P	O	O	N	N	M	M	
3	H	G	F	E	C	C	B	A	
	P	O	N	M	L	K	J	I	
4	H	G	F	E	D	C	B	A	
	P	O	N	M	L	K	J	I	

Fig. 5

	Fluoreszenz (Mittel) ± Standardabweichung	VK (%)	Anzahl der Platten (z)
leer	2,22 ± 0,19		6
100 µl A	3,69 ± 0,31		3
0,4 mM NADH in A			
100 µl	523,73 ± 6,91	1,32	3
90 µl	525,79 ± 7,65	1,45	3
80 µl	525,5 ± 7,77	1,47	3
0,2 mM NADH in A, 100 µl	477,8 ± 8,46	1,77	1
0,1 mM NADH in A, 100 µl	360,1 ± 5,94	1,65	3
Methylumbelliferon in B, 100 µl			
2,5 µM	2637,3 ± 51,69	1,96	1
5,0 µM	5823,65 ± 120,55	2,07	2

A: 100 mM Triäthanolamin/HCl pH 7,8, B: 1 M Diethanolamin/HCl pH 9,8
 Fluoreszenzwerte sind die Mittel und Standardabweichungen von n
 (n = z x 96), VK: Mittel der Variationskoeffizienten aller z Einzel-VK der
 gemessenen Platten;

Fig. 6

a: Intra-assay-Unpräzision:

GALT-Aktivität	Fluoreszens (Mittel)	VK (%)	n
0 (Galaktosämie)	8.84	12.56	12
verdünntes Normalblut	37.84	11.17	20
verdünntes Normalblut	116.58	7.55	21
verdünntes Normalblut	169.35	6.80	21
Normalblut	188.17	7.03	21
Blindwert vom Normalblut	8.15	8.36	21

b: Inter-assay-Unpräzision:

GALT-Aktivität	Fluoreszens (Mittel)	VK (%)	n
0 (Galaktosämie)	8,2	19,3	12
verdünntes Normalblut	37,63	17,2	12
verdünntes Normalblut	107,84	7,8	12
verdünntes Normalblut	150,78	8,1	12
Normalblut	186,32	4,3	12

Fig.7

Signal des GALT-Tests mit verschiedenen Entfettungsmitteln
20 µl Test, 60 (40) µl Entfettungslösung

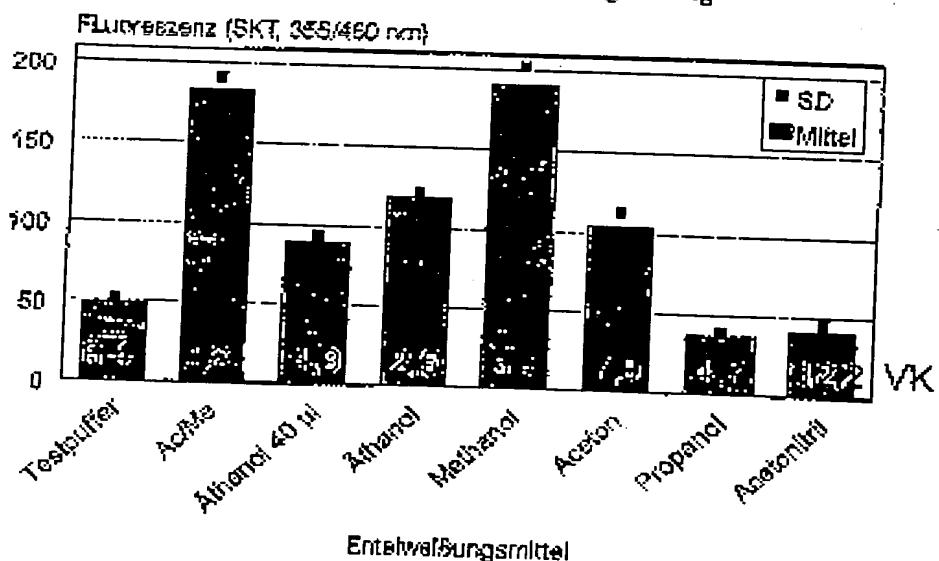


Fig. 8

DERWENT-ACC-NO: 1999-182018
DERWENT-WEEK: 199916
COPYRIGHT 1999 DERWENT INFORMATION LTD

TITLE: Microtitration plate for wide application - comprises thermoformed, opaque, coloured polypropylene, with standard grid of frustrated conical recesses, and is complemented by support stand and ejector plate

INVENTOR: HORN, A; RHODE, H ; SCHARFF, M ; WOELFEL, H

PATENT-ASSIGNEE: UNIV SCHILLER JENA[UYJE]

PRIORITY-DATA: 1997DE-1039119 (September 6, 1997)

PATENT-FAMILY:

PUB-NO MAIN-IPC	PUB-DATE	LANGUAGE	PAGES
DE 19739119 A1 003/00	March 11, 1999	N/A	012 B01L

APPLICATION-DATA:

PUB-NO	APPL-DESCRIPTOR	APPL-NO	APPL-DATE
DE19739119A1 1997	N/A	1997DE-1039119	September 6,

INT-CL (IPC): B01L003/00; G01N001/28 ; G01N021/62 ; G01N021/76 ; G01N033/52

ABSTRACTED-PUB-NO: DE19739119A

BASIC-ABSTRACT: NOVELTY - The microtitration plate (1) is opaque, non-fluorescing and resistant to organic solvents. It is thermoformed from e.g. polypropylene. Its frustrated conical sample recesses (2) accept solid and liquid microlitre samples. DETAILED DESCRIPTION - Preferred features: The thermoplastic includes coloured pigments. Its e.g. side surfaces (3, 4), bulges, steps (6), folds, beads and/or bevels (5), are provided for reinforcement. Scale markings define a grid for sample location, which is embossed during thermoforming. A companion, stabilizing base plate has holes corresponding with the sample recesses of the microtitration plate, into which they are inserted and locked into position, held under friction. This base includes tempering equipment, such as an internal heating spiral, or is in contact with e.g. a fluid bath. A further plate (not shown) which carries ejection pegs, pushes the microtitration plate out of the stabilizing base, the pegs entering the holes from the rear, to press against the bases of the sample recesses.

USE - For handling a wide variety of samples including organic solvents. The grid is a standard pattern, suiting automatic equipment.

ADVANTAGE - This plate is extremely simple and economical to manufacture, and of near-universal application. Optical techniques may be used, without detracting from measurement sensitivity. The conical form assists sample loading, and locates e.g. small filter paper stampings. DESCRIPTION OF DRAWING(S) - A general isometric view is shown (1) microtitration plate; (2) conical sample recesses; (3, 4) side surfaces; (5) bevels; (6) steps..

CHOSEN-DRAWING: Dwg.1/8

This Page Blank (uspto)

TITLE-TERMS:

PLATE WIDE APPLY COMPRISE OPAQUE COLOUR POLYPROPYLENE STANDARD GRID CONICAL
SAMPLE RECESS COMPLEMENTARY SUPPORT STAND EJECT PLATE

DERWENT-CLASS: A89 B04 D16 J04 S03

CPI-CODES: A04-G03E; A12-L04; B04-C03B; B11-C08; B12-K04; D05-A01C1; J04-B01;

EPI-CODES: S03-E04X;

CHEMICAL-CODES:

Chemical Indexing M1 *01*

Fragmentation Code

H7 H721 M210 M213 M231 M320 M416 M423 M424 M610
M740 M781 M903 M904 M910 N102 P831 Q233 Q435 V743

Specfic Compounds

00964Q 00964U

Registry Numbers

0964S 0964U

Chemical Indexing M6 *02*

Fragmentation Code

M903 P831 Q233 Q435 R515 R533 R639

UNLINKED-DERWENT-REGISTRY-NUMBERS: 0964S; 0964U

ENHANCED-POLYMER-INDEXING:

Polymer Index [1.1]

018 ; R00964 G0044 G0033 G0022 D01 D02 D12 D10 D51 D53 D58 D83 ;
H0000 ; S9999 S1434 ; H0317 ; P1150 ; P1343

Polymer Index [1.2]

018 ; ND01 ; K9416 ; N9999 N6111 N6097 ; Q9999 Q7794*R ; Q9999 Q8355
Q8264 ; B9999 B4375 B4240 ; B9999 B4262 B4240

Polymer Index [1.3]

018 ; A999 A102 A077

SECONDARY-ACC-NO:

CPI Secondary Accession Numbers: C1999-053270

Non-CPI Secondary Accession Numbers: N1999-133575

This Page Blank (uspto)